Iranian Food Science and Technology Research Journal
Vol. 19, No. 4, Oct.-Nov. 2023, p. 541-556

نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
جلد ۱۹، شماره ۴، مهر - آبان ۱۴۰۲ ص. ۵۵۶-۵۴۱

Research Article
Homepage: https://ifstrj.um.ac.ir

Evaluation of Antioxidant Effect of Ethanolic Extract of Aloe Vera Gel on the Stability of Soybean Oil

M. Karami[1], L. Nateghi[2*], S. Asadollahi[3]

Received: 2022.07.08
Revised: 2022.09.01
Accepted: 2022.10.11
Available Online: 2022.10.12

How to cite this article:
Karami, M., Nateghi, L., & Asadollahi, S. (2023). Evaluation of antioxidant effect of ethanolic extract of aloe vera gel on the stability of soybean oil. *Iranian Food Science and Technology Research Journal, 19*(4), 541-556. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22067/ifstrj.2022.77602.1189

Introduction

Oxidation of lipids results in changes that may affect the nutritional quality, wholesomeness, colour, flavour and texture of food. The aim of this study was to investigate the type and amount of phenolic compounds in ethanolic extract of aloe vera gel as a source of natural antioxidant and its effect on the oxidative stability of soybean oil.

Using synthetic antioxidant due to the possibility of toxic and carcinogenic effects is limited. Thus, it is important to find an alternative to synthetic antioxidants by natural antioxidant. Different intrinsic and extrinsic factors may initiate the oxidation of lipids. The initial products of oxidation are tasteless and odorless and after degradation and production of secondary products, the off-flavors and off-odors will appeared in edible oils. This is a great concern in food industry, because it decreases the shelf life of food products. Free radicals are produced during chain reactions in lipid oxidation process. To avoid this, synthetic antioxidants are usually used which are sensible to heat and are hazardous to human health and may cause cancer. Polyphenols have antioxidant activity and absorb free radicals. Thus, the vegetable oils rich in polyphenols can affect human health. In this research, we aimed to investigate the application of natural extract of aloe vera gel as a natural antioxidant to avoid soy oil oxidation and to compare it with synthetic antioxidants. The rate of oxidation reaction can be delayed by adding antioxidants. Consumers today tend to use natural antioxidants instead of synthetics. The overall purpose of this study was to investigate the effect of adding ethanolic extract of aloe vera gel as natural antioxidant on improving the stability of soybean oil.

Materials and Methods

The compounds in ethanolic extract of aloe vera gel were determined using GC / MS. The antioxidant activity was evaluated by the method of DPPH. For this purpose, ethanolic extracts of aloe vera gel were added to soybean oil in four different concentrations (500, 1000, 1500, 2000 ppm) and peroxide value, acidity, thiobarbituric acid, total phenol, oxidative stability to Rancimat method, fatty acid profile and sensory evaluation were performed on soybean oil samples and compared with the control sample containing 120 ppm BHA and soybean oil sample without adding antioxidants during 30, 60 and 90 days of storage at 25 ° C.

Results and Discussion

The results showed that by increasing the concentration of aloe vera extracts from 500 to 2000 ppm, the oxidation rate decreases during 90 days of storage, the amount of peroxide, thiobarbituric acid and acidity of soybean oil

1, 2 and 3- M.Sc and Associate Professors, Department of Food Science and Technology, Varamin-Pishva Branch, Islamic Azad University, Varamin, Iran, respectively.
(*- Corresponding Author Email: leylanateghi@iauvaramin.ac.ir)
DOI: 10.22067/ifstrj.2022.77602.1189

containing 2000 ppm ethanolic extract of aloe vera gel was lower than the control sample containing 120 ppm BHA. The total phenol content and free radical scavenging and stability to oxidative degradation by Rancimat method in soybean oil sample containing 2000 ppm aloe vera ethanol extract was higher than soybean oil samples containing BHA120 ppm. Evaluation of sensory properties showed that no significant difference was observed between the sensory properties of the oil sample containing 2000 ppm ethanolic extract of aloe vera gel and the control soybean oil sample of BHA120 ppm.

Conclusion

Considering that the sample of soybean oil containing 2000 ppm ethanolic extract of aloe vera gel had higher phenol content and free radical scavenging and more antioxidant properties than the control sample, it did not differ significantly from the control sample. Qualitative and health properties were selected as the superior treatment. The results of this study showed that the ethanolic extract of aloe vera gel can be used as a natural antioxidant instead of conventional synthetic antioxidants in the oil industry and to prevent oxidative spoilage of the oil in a desirable way. Therefore, it might be employed as a natural antioxidant in foods, particularly those containing edible oils.

Keywords: Aloe vera gel, Antioxidant activity Soybean oil

Iranian Food Science and Technology Research Journal
Vol. 19, No. 3, Oct.-Nove. 2023, p. 541-556

نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
جلد ۱۹، شماره ۴، مهر- آبان ۱۴۰۲ ص. ۵۵۶-۵۴۱

مقاله پژوهشی

بررسی اثر آنتی‌اکسیدانی عصاره اتانولی ژل آلوئه‌ورا بر پایداری روغن سویا

مرجان کرمی[۱]- لیلا ناطقی[۲*]- سیمین اسداللهی[۳]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۴/۱۷
تاریخ بازنگری: ۱۴۰۱/۰۶/۱۰
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۷/۱۹

چکیده

اکسیداسیون چربی‌ها از مهم‌ترین دلیل فساد مواد غذایی به شمار می‌آید. سرعت واکنش اکسیداسیون را می‌توان با اضافه کردن آنتی‌اکسیدان‌ها به تأخیر انداخت. در این مطالعه اثر آنتی‌اکسیدانی عصاره اتانولی آلوئه‌ورا بر پایداری روغن سویا مورد مطالعه قرار گرفت. ترکیبات موجود در عصاره آلوئه ورا با استفاده از GC/MS شناسایی شدند. بررسی خاصیت آنتی‌اکسیدانی با اندازه‌گیری مقدار ترکیلات فنلی و فلاونوئیدی عصاره اتانولی و آزمون رادیکال‌کنندگی DPPH صورت گرفت و در ادامه عصاره آلوئه‌ورا در چهار سطح (ppm ۲۰۰۰،۱۵۰۰،۱۰۰۰،۵۰۰) و آنتی‌اکسیدان سنتزی BHA، در سطح ppm ۱۲۰ به روغن سویا اضافه و عدد پراکسید، اسیدیته، تیوباربیتوریک اسید و پایداری اکسایشی به روش رنسیمت اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد با افزایش غلظت عصاره‌های آلوئه‌ورا از ۵۰۰ تا ppm ۲۰۰۰، فساد اکسیداتیو با روند کندتری طی ۹۰ روز نگهداری در روغن سویا مشاهده گردید. پس از ۹۰ روز نگهداری، میزان عدد پراکسید، تیوباربیتوریک اسید و اسیدیته نمونه روغن سویا حاوی ppm ۲۰۰۰ عصاره اتانولی ژل آلوئه‌ورا از نمونه شاهد که حاوی ppm BHA ۱۲۰ بود کمتر بود. میزان فنل کل و مهار رادیکال آزاد و پایداری به فساد اکسیداتیو به روش رنسیمت در نمونه روغن سویا حاوی ppm ۲۰۰۰ عصاره اتانولی ژل آلوئه‌ورا از نمونه روغن سویا که حاویppm BHA ۱۲۰ بود بالاتر بود. با توجه به اینکه نمونه روغن سویای حاوی ppm ۲۰۰۰ عصاره اتانولی ژل آلوئه‌ورا میزان فنل کل و مهار رادیکال آزاد و خصوصیات آنتی‌اکسیدانی بیشتری نسبت به نمونه شاهد داشت بنابراین نمونه مذکور از نظر خواص کیفی و سلامت بخشی به عنوان تیمار برتر انتخاب گردید.

واژه‌های کلیدی: اثر آنتی‌اکسیدانی، روغن سویا، ژل آلوئه‌ورا، عصاره اتانولی

مقدمه

روغن‌های گیاهی نقش مهمی در تغذیه بشر بر عهده دارند ولی به دلیل داشتن اسیدهای چرب غیراشباع در معرض فساد اکسیداتیو هستند.

اکسایش، یکی از واکنش‌های مهم در کاهش ارزش تغذیه‌ای و کیفیت چربی‌ها می‌باشد. اکسایش چربی‌ها می‌تواند تحت تاثیر عوامل داخلی و خارجی متعددی مانند نوع اسید چرب، مقدار و فعالیت آنتی‌اکسیدانی، نور، دما، فشار اکسیژن، تماس با اکسیژن و فعالیت آبی قرار گیرد. اکسایش چربی‌ها در حین نگهداری و فرآوری غذا نه تنها باعث از دست رفتن کیفیت تغذیه‌ای غذا می‌شود، بلکه محصولات حاصل از اکسایش همانند رادیکال‌های آزاد می‌توانند منجر به واکنش‌های نامطلوب شیمیایی نیز شوند. آنتی‌اکسیدان‌ها از ویتامین‌های محلول در چربی، کاروتنوئیدها و سایر اجزای مغذی موجود در غذاها محافظت می‌نمایند (Bubonja-Sonje *et al.*, 2011).

برای جلوگیری از اکسایش روغن‌ها معمولاً از آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی مانند TBHQ[۴]، BHA [۵] و BHT [۶] استفاده می‌شود. این

۱، ۲ و ۳- به‌ترتیب کارشناس ارشد و دانشیاران، گروه علوم و صنایع غذایی، واحد ورامین– پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، ورامین، ایران
(*- نویسنده مسئول: Email: leylanateghi@iauvaramin.ac.ir)
DOI: 10.22067/ifstrj.2022.77602.1189

4- Tertiary-Butylhydroquinone
5- Butylated Hydroxytoluene
6- Butylated hydroxyanisole

آنتی‌اکسیدان‌ها فرار و حساس به گرما بوده و استفاده از آنها سلامتی انسان را تهدید کرده و باعث بروز سرطان می‌شوند. استفاده از این ترکیبات در مواد غذایی روز به روز محدودتر شده و بررسی جایگزین‌های طبیعی منجر به شناسایی آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی از منابع گیاهی شده است (Wang *et al.*, 2008). امروزه استفاده از ترکیبات فنولی موجود در گیاهان را می‌توان به عنوان یکی از بهترین منابع ضد اکسایشی طبیعی نام برد. پلی‌فنول‌ها ترکیبات آنتی‌اکسیدانی هستند و قادرند رادیکال‌های آزاد را جذب نمایند. با توجه به فوایدی که پلی‌فنول‌ها در سلامتی انسان دارند، روغن‌های گیاهی غنی از پلی‌فنول‌ها می‌توانند در افزایش سلامت بشر نیز تاثیر گذار باشد (Salta *et al.*, 2007).

آلوئه ورا با نام علمی *Aloe vera* گیاهی متشکل از 96 درصد آب و 4 درصد ماده خشک می‌باشد. ترکیباتی که در ژل آلوئه ورا یافت شده‌اند، از جمله ترکیبات پلی ساکاریدی هستند که قادر به کاهش و ترمیم التهاب هستند. این ترکیبات همچنین دارای خاصیت ضدمیکروبی نیز هستند. آلوئه‌ورا دارای بیش از ۷۵ ماده مغذی ، ۲۰۰ ترکیب فعال، ۲۰ نوع ماده معدنی، ۱۸ نوع آمینو اسید و ۱۲ نوع ویتامین (از جمله E، C، B12، B6، B2، B1 و A فولیک اسید و نیاسین) بوده و ترکیباتی نظیر آلوئین، فامودین، آنتراکینون، ایزوبارbالوئین در آن موجود است. کلسیم و آلوئین نیز درآلوئه ورا موجود هستند، آلوئین ملینی بسیار قوی است. ویتامین‌های موجود در آلوئه‌ورا E، C، B12، B6، B2، B1 و A فولیک اسید و نیاسین می‌باشد. مواد معدنی که در آلوئه ورا یافت می‌شود و شامل کلسیم، سدیم، آهن، پتاسیم، کروم، منگنز، مس و روی می‌باشد که همگی برای سلامتی بسیار حیاتی می‌باشند. آنزیم‌هایی نظیر آمیلاز و لیپاز که برای کاهش چربی و قندخون مفیدند، در این گیاه موجود است. از قندهای موجود در این گیاه منو و پلی ساکاریدها نظیر گلوکوز و مانوز را می‌توان نام برد (Joseph, 2010).

در پژوهشی فعالیت آنتی‌اکسیدانی برگ سنا را بر پایداری روغن سویا بررسی کرده و نشان دادند که غلظت ۷۵۰ ppm، عصاره متانولی برگ سنا کارایی خوبی در کند نمودن روند اکسایش روغن سویا دارد (Parizan *et al.*, 2011). در پژوهش دیگری اثر آنتی‌اکسیدانی ترکیبات فنولی هسته انار را بر روغن سویا مورد مطالعه قرار داده و نشان دادند که غلظت ۳۵۰ ppm عصاره هسته انار دارای اثر آنتی‌اکسیدانی مشابه غلظت ۲۰۰ ppm آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی می‌باشد (Samad Louei *et al.*, 2007). در پژوهش دیگری ویژگی‌های آنتی اکسیدانی عصاره برگ زیتون در روغن آفتابگردان را بررسی نمودند. آنها در این بررسی نشان دادند که عصاره متانولی برگ زیتون در سطح ۱۰۰۰ ppm، به خوبی توانسته است شاخص پراکسید و اسید تیوباربیتوریک را کنترل کرده و جایگزین آنتی اکسیدانی‌های BHA و BHT شود (Rafiei *et al.*, 2011). با توجه به این که تاکنون اطلاعات اندکی در ارتباط با خصوصیات آنتی‌اکسیدانی ژل آلوئه‌ورا و استفاده از آن بعنوان آنتی‌اکسیدان طبیعی در روغن انجام شده است، لذا هدف از این پژوهش بررسی اثر آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ی اتانولی آلوئه ورا در مقایسه با آنتی‌اکسیدان سنتزی BHA بود.

مواد و روش‌ها

مواد

برگ آلوئه‌ورا مورد استفاده از یک عطاری واقع در تهران خریداری شد و نام علمی آن در هرباریوم دانشگاه تهران به نام *Aloe vera* تایید گردید. روغن سویای تصفیه شده و فاقد آنتی‌اکسیدان از کارخانه روغن نباتی ورامین، ایران تهیه گردید. سایر مواد شیمیایی شامل معرف فولین سیو کالتیو، کربنات سدیم، متانول، بوتانول، آلومینیوم کلراید، پتاسیم استات ۱ μ، کوئرستین، دی‌فنیل پیکریل هیدرازیل، اسید استیک و کلروفرم، یدور پتاسیم، تیوسولفات ۰/۲ نرمال، دی‌اتیل اتر، فنل فتالئین، هیدروکسید سدیم، هیدروکسید پتاسیم و اسید تیوباربیتوریک از شرکت مرک[1] آلمان تهیه گردید.

روش آماده‌سازی ژل آلوئه‌ورا

در ابتدا برگ‌های آلوئه‌ورا خریداری شد و پس از شستشو با آب و بریدن آن‌ها، ژل درون برگ‌های تازه آلوئه‌ورا خارج گردید. ژل بدست آمده به منظور جداسازی فیبرها، در ۴۰۰۰ دور و به مدت ۱۵ min سانتریفیوژ گردید (Ayoubi *et al.*, 2013).

استخراج عصاره اتانولی از ژل آلوئه‌ورا

ژل‌های آلوئه‌ورا در آون ۶۰ درجه سانتی‌گراد خشک و به پودر تبدیل شدند. سپس عصاره اتانولی پودر ژل آلوئه‌ورا به روش غوطه‌وری مطابق با روش Tiwari *et al.*, (2011) با اندکی تغییر استخراج شد. ۵۰ g پودر ژل آلوئه‌ورا در ۲۵۰ ml اتانول ۹۶ ٪ به مدت یک شبانه‌روز با استفاده از دستگاه همزن مغناطیسی در دمای اتاق همزده شد. عصاره حاصل با کاغذ واتمن شماره یک صاف گردید. سپس حلال با استفاده از دستگاه اواپراتور چرخان تحت خلاء در دمای کمتر از ۴۰ °C حذف شد و عصاره آلوئه‌ورا تا غلظت mg/ml ۲۱ تغلیظ شد. سپس عصاره اتانولی بدست آمده در یک ظرف شیشه ای پوشیده شده با فویل آلومینوم ریخته شده و تا زمان استفاده بعدی در دمای یخچال نگهداری گردید.

1- Merck

اندازه‌گیری ترکیبات شیمیایی عصاره آلوئه‌ورا

برای آنالیز اسانس، دستگاه کروماتوگرافی گازی (مدل Agilent Technologies 7890A، ساخت کشور آمریکا) و طیف‌سنج جرمی (مدل Agilent Technologies 5975C، ساخت کشور آمریکا) با ستون دستگاه (Agilent Technologies Inc.HP-5MS، ساخت کشور آمریکا) که از نوع مویینه با طول ۳۰ m، قطر ۰/۲۵ mm که لایه فاز ساکن در آن ۰/۲۵ µ میکرون می‌باشد مورد استفاده قرار گرفت. برنامه ریزی حرارتی از ۵۰ C° تا ۲۷۰ با افزایش دمای ۳ C° در دقیقه بود. درجه حرارت محفظه تزریق ۲۸۰ C° بود. گاز هلیوم به عنوان گاز حامل با درجه خلوص بالا مورد استفاده قرار گرفت. انرژی یونیزاسیون ۷۰ EV بود. شناسایی ترکیبات تشکیل دهنده عصاره با استفاده از شاخص‌های بازداری و بررسی طیف‌های جرمی ترکیبات و مقایسه آن‌ها با طیف‌های جرمی استاندارد موجود در کتابخانه‌های رایانه‌ای و مراجع معتبر صورت گرفت (Singh *et al*., 2005).

آزمون‌های انجام شده بر روی عصاره‌ها

اندازه‌گیری مقدار کل ترکیب‌های فنولی

محتوای ترکیبات فنولی از طریق متد فولین‌سیوکالتیو انجام شد. غلظت ۱ mg/ml از هر عصاره تهیه شد. ۰/۵ ml از هر غلظت از عصاره با ۲/۵ ml واکنشگر فولین سیو کالتیو مخلوط شده و به مدت ۵ min هم زده شد. سپس ۲ ml محلول کربنات سدیم با غلظت ۷۵ g/l اضافه گردید. جذب نمونه‌ها پس از ۲ h در دمای اتاق توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر ماوراء بنفش T80+ UV2100/VIS spectrophotometer)، آمریکا) در ۷۶۰ نانومتر اندازه‌گیری گردید. نتایج به صورت مقادیر هم ارز با استاندارد اسید گالیک بیان گردید. به این صورت که میانگین جذب حاصل در معادله خط به دست آمده از ترسیم منحنی استاندارد گالیک اسید قرار داده شده و نتیجه به عنوان محتوای تام فنولی عصاره به صورت میلی‌گرم معادل گالیک اسید در گرم عصاره گزارش شد. آزمایشات برای هر عصاره و استاندارد سه بار تکرار شد (Ebrahimzadeh *et al*., 2008).

اندازه‌گیری مقدار کل ترکیب‌های فلاونوئیدی

مقدار کل ترکیب‌های فلاونوئیدی موجود در عصاره آلوئه‌ورا از طریق رنگ سنجی اندازه‌گیری گردید. ۰/۵ ml از عصاره درون لوله آزمایش در ۱/۵ ml متانول حل شد و سپس ۰/۱ ml آلومینیوم کلراید ۱۰ ٪ و ۰/۱ ml از محلول پتاسیم استات ۱ مولار به آن اضافه گردید. در نهایت ۲/۸ ml آب مقطر به آن‌ها اضافه شد و به مدت ۳۰ min در دمای اتاق نگهداری شد و جذب مخلوط حاصل در طول موج nm ۴۱۵ توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر T80+ UV2100/VIS spectrophotometer)، آمریکا) قرائت گردید. کوئرستین به‌عنوان استاندارد برای رسم منحنی کالیبراسیون استفاده شد. مقدار فلاونوئید براساس میزان میلی‌گرم معادل کوئرستین در گرم نمونه خشک بیان شد (Chang *et al*., 2002).

ارزیابی فعالیت مهار رادیکال آزاد DPPH

توانایی آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های آلوئه‌ورا از طریق بی رنگ شدن محلول اتانولی DPPH اندازه‌گیری گردید. در این روش به عنوان ترکیبات رادیکالی از DPPH به عنوان معرف استفاده گردید (Yao *et al*., 2013). بدین ترتیب که ۵۰ µl از غلظت‌های مختلف اسانس در اتانول به ۵ ml محلول ۰/۰۰۴ درصد DPPH در اتانول اضافه گردید. بعد از ۳۰ min گرمخانه‌گذاری در دمای اتاق جذب نوری نمونه‌ها در طول موج ۵۱۷ nm در برابر شاهد قرائت شده و درصد مهار شدن رادیکال‌های آزاد با استفاده از معادله ۱ محاسبه گردید.

معادله ۱:
$$DPPH = \frac{\text{درصد جذب شاهد} - \text{درصد جذب نمونه}}{\text{درصد جذب شاهد}} \times ۱۰۰$$

آماده‌سازی نمونه‌های روغن سویا

عصاره اتانولی ژل آلوئه‌ورا استخراج شده در چهار سطح (ppm ۲۰۰۰، ۱۵۰۰، ۱۰۰۰، ۵۰۰) و آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT در سطح (۱۲۰ ppm) به روغن سویای بدون آنتی‌اکسیدان که در شیشه‌های تیره رنگ ریخته شده بودند اضافه شد و درب شیشه‌ها بسته شد سپس نمونه‌ها به همراه نمونه شاهد (روغن سویا بدون آنتی‌اکسیدان) به مدت ۲۰ روز در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. سپس در روزهای ۳۰، ۶۰ و ۹۰ نگهداری آزمون‌های روغن شامل (عدد پراکسید، اسیدیته، تیوباربیتوریک اسید و رنسیمت) انجام و نمونه‌های روغن سویا حاوی عصاره اتانولی ژل آلوئه‌ورا با نمونه روغن سویا حاوی آنتی‌اکسیدان BHT و روغن سویا بدون آنتی‌اکسیدان مقایسه گردید.

آزمون‌های روغن سویا

تعیین عدد پراکسید

در این روش مقدار ۵ گرم نمونه آماده شد در ارلن مایر ۲۵۰ میلی لیتری وزن گردید و ۳۰ میلی‌لیتر حلال (مخلوط اسید استیک و کلروفرم) به آن اضافه شد، سپس حدود ۰/۵ میلی‌لیتر یدور پتاسیم به آن اضافه گردید و مخلوط به مدت یک دقیقه ساکن گذاشته و گاهی هم‌زده شد، سپس حدود ۳۰ میلی لیتر آب مقطر به آن اضافه شد و مخلوط به مدت یک دقیقه ساکن گذاشته و چند قطره چسب نشاسته

به محلول اضافه و با محلول تیوسولفات ۰/۰۲ نرمال تیتر گردید. وقتی که رنگ نمونه به یک حالت شفاف و زلال رسید تیتراسیون متوقف شد و عدد پراکسید بر حسب میلی اکی والان بر کیلوگرم با استفاده از معادله (۲) زیر محاسبه شد (Selmi *et al*., 2011).

معادله ۲: $\text{عدد پراکسید} = \frac{\text{حجم تیتراسیون مصرفی} \times \text{نرمالیته} \times 1000}{\text{حجم نمونه}}$

تعیین عدد اسیدیته

۲۰ میلی‌لیتر اتانول و ۲۰ میلی لیتر دی‌اتیل اتر در یک ارلن مایر ریخته و ۵ قطره فنل فتالئین به آن افزوده شد و خوب مخلوط گردید. ۵ گرم نمونه روغن را در ارلن مایر ۲۵۰ میلی‌لیتری دیگر وزن گردید و حلال فوق به آن افزوده شد. محتویات ارلن را با هیدروکسید سدیم یا هیدروکسید پتاسیم ۰/۱ یا ۰/۰۱ نرمال تا ظهور رنگ صورتی کم-رنگ که به مدت ۱۵ ثانیه پایدار بود تیتر نموده و حجم قلیای مصرفی یادداشت شد. نمونه شاهد نیز از طریق تیتراسیون حلال (بدون حضور نمونه روغن) با هیدروکسید سدیم یا هیدروکسید پتاسیم ۰/۱ یا ۰/۰۱ نرمال تا ظهور رنگ صورتی کم‌رنگ انجام پذیرفت و از طریق معادله (۳) اندیس اسیدی محاسبه گردید (Javadi *et al*., 2015).

معادله ۳ : $\text{عدد اسیدی} = \frac{(A-B)\times N\times 56.1}{W}$

A: حجم قلیای مصرفی در تیتراسیون نمونه (میلی‌لیتر)

B: حجم قلیای مصرفی در تیتراسیون شاهد (میلی‌لیتر)

N: نرمالیته قلیای مصرفی

W: وزن نمونه (گرم)

تعیین عدد تیوباربیتوریک اسید (TBA[1])

اندازه‌گیری این شاخص با استفاده از بوتانول به عنوان حلال و در حضور معرف اسید تیوباربیتوریک در طول موج ۵۳۰ نانومتر انجام گرفت. در ابتدا ۲۰۰ میلی‌گرم نمونه روغن در بالن ۲۵۰ میلی‌لیتری وزن شد سپس با بوتانول به حجم رسانده شد و به طور کامل توسط همزن مخلوط گردید. ۵ میلی‌لیتر از محلول نمونه با ۵ میلی‌لیتر محلول واکنش‌گر تیوباربیتوریک (حل کردن ۲۰۰ میلی‌گرم از پودر TBA در ۱۰۰ میلی‌لیتر حلال بوتانول و سپس صاف کردن آن) مخلوط شد و به مدت دو ساعت در یک حمام بخار با دمای ۵ درجه سلسیوس قرارگرفت. پس از اتمام این مدت، لوله آزمایش با استفاده از جریان آب به مدت ۱۰ دقیقه سرد گردید. میزان جذب محلول در طول موج ۵۳۰ نانومتر در مقابل شاهد توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر (شامل حلال و محلول واکنش‌گر) اندازه‌گیری گردید (Selmi *et al*., 2011).

1- Thiobarbituric acid

اندازه‌گیری شاخص پایداری اکسایشی (آنزیم رنسیمت)

پایداری اکسایشی (دوره اکسایش کند) با استفاده از دستگاه رنسیمت مدل Metrohm 743 (ساخت کشور سوئیس) در دمای ۱۱۰ درجه سلسیوس به میزان ۲/۵ g نمونه و دبی هوای ۲/۵ ml/min اندازه‌گیری گردید. در این آزمون ابتدا جریان هوای خالص از داخل نمونه عبور داده شد تا به دمای تعیین شده برسد. گازهای آزاد شده در طی فرآیند اکسیداسیون همراه با هوا از داخل یک فلاسک حاوی آب عاری از مواد معدنی، یا تقطیر شده عبور گردید. این فلاسک دارای یک الکترود به منظور اندازه‌گیری هدایت الکتریکی بود که به یک وسیله ثبات و اندازه‌گیری متصل بود. پایان مدت زمان القا نشان داد که در چه مدت زمانی هدایت الکتریکی به سرعت افزایش یافت. این روند سریع افزایش به دلیل تجمع اسیدهای چرب فرار تولید شده طی فرآیند اکسیداسیون بود (Farhoosh, 2007).

تجزیه و تحلیل داده‌ها

تجزیه و تحلیل نتایج به روش آنالیز واریـانس یکطرفه و مقایسه میانگین توسط روش دانکن در سطح احتمال ۵ درصد به وسیله نرم افزار مینی‌تب ۱۶ انجام شد.

نتایج و بحث

شناسایی ترکیبات فرار عصاره اتانولی ژل آلوئه‌ورا

براساس نتایج به دست آمده همانطور که در جدول ۱ مشاهده می‌گردد ۲۰ نوع ترکیب فنلی در عصاره اتانولی ژل آلوئه‌ورا شناسایی گردید. که بیشترین میزان مربوط به ترکیبات مونوترپن‌های اکسیژن-دار مثل کاروون (۱۵/۱۰ ٪)، و پس از آن متعلق به سیتوسترول (۹/۳۶۶ ٪) و کمترین میزان ترکیبات عصاره اتانولی ژل آلوئه‌ورا متعلق به ۷– تترادکان (۱/۰۰۰ ٪) بود. در تأیید نتایج بدست آمده، محققین به بررسی اثرات عصاره آلوئه‌ورا بر شاخص‌های رشد، ترکیب لاشه و فلور باکتریایی روده تاسماهی سیبری (*Acipenser baerii*) پرداختند (Bazari Moghadam *et al*., 2016) و با توجه به تنوع ترکیبات موجود در برگ آلوئه‌ورا و ویژگی‌های خاص هر یک از ترکیبات نظیر نقطه جوش متفاوت، از دو روش کروماتوگرافی گازی وکروماتوگرافی مایع استفاده شد. نتایج نشان داد که بیشترین ترکیبات شامل آلوئین[2]، اسکیولئن[3]، لیموئن[4]، n–هگزادکانوئیک اسید[5]، کاروون[6] و کاماریک اسید[7] بود.

2- Aloin
3- Squalene
4- Limoene
5- n- Hexadecanoic acid
6- Carvone
7- Comaric acid

همچنین نوع ترکیبات عمده و درصد آن‌ها در اسانس مورد مطالعه، در مقایسه با سایر بررسی‌های انجام گرفته متفاوت است که می‌تواند به شرایطی نظیر نوع کشت، شرایط خاک، آب و هوا، زمان برداشت، مدت زمان نگهداری، عصاره‌گیری از اندام‌های مختلف و در نهایت تفاوت ژنتیکی گیاه وابسته باشد.

جدول ۱- ترکیبات شیمیایی عصاره ژل آلوئه‌ورا

Table 1- Chemical composition of aloe vera gel extract

ترکیبات **Compounds**	میزان (درصد) **Level**	زمان بازداری **Retention time (min)**
Paraoxin	5.666±0.041	3.10
1, 5 Hepta DN- 4- N	1.366±0.047	3.86
Tricycline	1.166±0.057	7.86
Tridekan	3.200±0.000	8.33
2-Hydroxyethyl propionate	1.466±0.056	11.16
8-Methyl octa-hydro coumarin	1.233±0.050	12.95
Hexadecanoic acid methyl ester	4.033±0.052	16.56
Hexa decanoic acid	9.166±0.054	18.1
7-Tetradekan	1.000±0.000	19.92
Methyl eruption	2.266±0.051	20.43
Lopeol	1.366±0.044	20.62
Pirokaktol	9.166±0.046	21.15
Oleic acid	6.866±0.048	21.96
Cinnamic acid	3.266±0.052	22.78
15,12,9- Octa-de-tri-anoic acid methyl ester	5.066±0.055	23.66
Paracoumaric acid	8.733±0.053	24.82
Skovaln	8.033±0.046	31.67
Octadecan, 2- Methyl ester	2.466±0.040	33.2
Karron	15.100±0.048	36.78
Cytosterol	9.366±0.049	39.2

خصوصیات آنتی‌اکسیدانی عصاره اتانولی ژل آلوئه‌ورا

ارزیابی خصوصیات آنتی‌اکسیدانی عصاره اتانولی ژل آلوئه‌ورا در جدول ۲ نشان داده شده است. مطابق با نتایج میزان فنل کل عصاره اتانولی ژل آلوئه‌ورا (۱۹۲/۶۷۷ mgGAE/g)، قدرت مهارکنندگی رادیکال (۸۶/۵۳۳ µg/ml) و میزان فلاونوئید (mg QE/g ۱۵۱/۹۰۰) گزارش شد.

با افزایش غلظت یا درجه هیدروکسیلاسیون ترکیبات فنولی، فعالیت مهار رادیکال DPPH افزایش می‌یابد که به‌عنوان فعالیت آنتی اکسیدانی تعریف می‌شود. این روش در غلظت‌های بسیار کم نیز قابل استفاده است که به‌دلیل حساسیت زیاد رادیکال DPPH، به ترکیبات اهداءکننده هیدروژن می‌باشد که باعث تبدیل آن به فرم غیررادیکالی و کاهش جذب در ۵۱۷ نانومتر می‌گردد. با افزایش غلظت ترکیبات فنولی، به دلیل افزایش تعداد گروه‌های هیدروکسیل موجود در محیط و در نتیجه افزایش احتمال اهداء هیدروژن به رادیکال آزاد، فعالیت مهار رادیکالDPPH افزایش می‌یابد. طی تحقیقی محتوای فنولی در عصاره‌های ریحان، برگ بو، جعفری، سروکوهی، تخم بادیان رومی، رازیانه، زیره، هل و زنجبیل مورد بررسی قرار گرفته و بیان نمودند عصاره‌های مربوط به ریحان و برگ بو، بیش‌ترین فعالیت ضداکسایشی را در مقایسه با سایر گیاهان تحت بررسی دارا می‌باشند که به دلیل بالابودن میزان ترکیبات فنلی در این عصاره‌ها بود (Hinneburg *et al.*, 2006). همچنین در پژوهش دیگری به‌ترتیب با افزودن ژل آلوئه‌ورا به نوشیدنی انگور- زنجبیل (Sasi Kumar *et al.*, 2013) و خربزه درختی (Boghani *et al.*, 2012) افزایش قابل توجه در زمان ماندگاری محصول را مشاهده کردند و علت آن را ترکیبات آنتی‌اکسیدانی و فلاونوئیدی (که دارای اثرات ضدمیکروبی می‌باشند) موجود در ژل آلوئه‌ورا دانستند. طی بررسی غنی‌سازی نکتار نارنگی با ژل آلوئه‌ورا (Bhargawa *et al.*, 2014) افزایش ارزش تغذیه‌ای نوشیدنی حاصل را گزارش کردند که علت آن را ترکیبات آنتی‌اکسیدانی و فنولی موجود در آلوئه‌ورا بیان نمودند.

جدول ۲- بررسی خصوصیات آنتی‌اکسیدانی عصاره اتانولی ژل آلوئه‌ورا

Table 2- Investigation of antioxidant properties of ethanolic extract aloe vera gel

Total phenol (mg/g) فنل کل (میلی‌گرم اسید گالیک در گرم عصاره)	192.667±0.025
DPPH radical inhibitory power (µg / ml) مقدار قدرت مهارکنندگی رادیکال DPPH (میکروگرم/ میلی‌لیتر)	86.533±0.451
The amount of flavonoids in aloe vera gel extract (mg QE/g) مقدار فلاونوئید در عصاره ژل آلوئه ورا (میلی‌گرم بر گرم)	151.900±0.361

نتایج میزان اسیدیته روغن سویا حاوی غلظت‌های مختلف عصاره اتانولی آلوئه‌ورا

عدد اسیدی یکی از معیارهای شیمیایی مفید برای تعیین شدت تجزیه روغن است. به هر حال، عدد اسیدی معرف اسید چرب آزاد می‌باشد که این اسیدهای چرب به سرعت اکسید می‌شوند و اکسایش اسیدهای چرب غیراشباع دیگر را نیز از طریق فعال‌سازی و انحلال کاتالیزورهای فلزی افزایش می‌دهند (Shahidi, 2005). میزان اسیدیته روغن سویا حاوی غلظت‌های مختلف عصاره اتانولی آلوئه‌ورا در جدول ۳ گزارش شده است. عدد اسیدی با گذشت زمان روند افزایشی داشت به‌طوری‌که بعد از ۹۰ روز نگهداری، بالاترین میزان اسیدیته (۱/۱۳۳ mg KOH/g) متعلق به نمونه روغن سویای شاهد و پائین‌ترین میزان اسیدیته (۰/۱۴۶ mg/KOH) متعلق به نمونه روغن سویا حاوی ۲۰۰۰ ppm عصاره اتانولی آلوئه‌ورا بود که علت آن می تواند به دلیل وجود ترکیبات فنلی، فلاونوئیدی و ترکیبات با خاصیت آنتی‌اکسیدانی بالا در عصاره اتانولی آلوئه‌ورا باشد که مانع از اکسیداسیون در روغن می‌گردند. در این راستا محققین پس از بررسی اثر عصاره گیاه اناریچه بر پایدارسازی روغن کانولا، بیان کردند که میزان عدد اسیدی نمونه‌های حاوی عصاره اناریچه تقریباً مشابه با نمونه حاوی آنتی‌اکسیدان سنتزی بود و طی دوره نگهداری میزان عدد اسیدی همه نمونه‌ها افزایش یافت (Salehi *et al*., 2014). همچنین اسفندیارفرد و ضیاءالحق (Esfandiarifard and Ziaolhagh, 2021) به بررسی اثر آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های بره موم بر روغن سویا و آفتابگردان پرداختند و گزارش نمودند که با افزودن این عصاره به نمونه‌های روغن میزان اندیس اسیدی به طور معنی‌داری کاهش یافت. آن‌ها همچنین مشاهده کردند که در طی دوره نگهداری، میزان این اندیس در کلیه نمونه‌ها به تدریج افزایش پیدا کرد که با نتایج تحقیق حاضر مشابهت داشت.

طبق استاندارد ملی ایران به شماره ۲۳۹۲، بیشینه اسیدیته روغن سویا ۰/۱ درصد تعیین شده است که نتایج تحقیق حاضر نشان داد که نمونه‌های روغن حاوی ۲۰۰۰ ppm در محدوده استاندارد بودند.

جدول ۳- بررسی تغییرات اسیدیته MgKOH/g روغن سویا حاوی غلظت‌های مختلف عصاره اتانولی ژل آلوئه ورا طی ۹۰ روز نگهداری و شاهد[1]

Table 3- Evaluation of MgKOH / g acidity changes of soybean oil containing different concentrations of ethanolic extract of aloe vera gel during 90 days of storage and control [1]

Type and concentration of antioxidant نوع و غلظت آنتی‌اکسیدان	Storage time at 25 ° C مدت زمان نگهداری در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد		
	Day 30 روز ۳۰	Day 60 روز ۶۰	Day 90 روز ۹۰
500 ppm extract+ oil	0.200 ± 0.000^{bC}	0.326 ± 0.005^{bB}	0.573 ± 0.005^{bA}
1000 ppm extract+ oil	0.170 ± 0.000^{cC}	0.266 ± 0.005^{cB}	0.503 ± 0.005^{cA}
1500 ppm extract+ oil	0.163 ± 0.005^{cC}	0.240 ± 0.000^{deB}	0.453 ± 0.005^{cdA}
2000 ppm extract+ oil	0.146 ± 0.005^{dC}	0.226 ± 0.005^{eB}	0.413 ± 0.005^{dA}
120 ppm BHT+ oil	0.160 ± 0.000^{cC}	0.246 ± 0.005^{dB}	0.496 ± 0.005^{cA}
Oil (without antioxidant)	0.373 ± 0.005^{aC}	0.693 ± 0.005^{aB}	1.133 ± 0.057^{aA}

شاهد[1]: روغن سویا بدون آنتی‌اکسیدان و حاوی ۱۲۰ ppm BHT

نتایج به صورت میانگین ± انحراف معیار نشان داده شده است.

حروف متفاوت کوچک نشانگر اختلاف معنی‌دار در هر ستون می‌باشد.

حروف متفاوت بزرگ نشانگر اختلاف معنی‌دار در هر ردیف می‌باشد.

Control [1]: Soybean oil without antioxidants and containing 120 ppm BHT

Results are shown as mean ± standard deviation.

Small lower case letters indicate a significant difference in each column.

Different uppercase letters indicate a significant difference in each row.

نتایج محتوای فنل کل در روغن سویا حاوی غلظت‌های مختلف عصاره اتانولی آلوئه‌ورا

ترکیبات فنلی (مانند فلاوونوئیدها، فنولیک اسیدها و آنتوسیانین ها) که به عنوان آنتی‌اکسیدان‌های آبدوست شناخته شده‌اند، متابولیت-های ثانویه‌ای هستند که در گیاهان به وفور وجود دارند. خصوصیات آنتی‌اکسیدانی ترکیبات فنلی به طور مستقیم با ساختار آن‌ها مرتبط است. این ترکیبات با داشتن یک یا چند گروه هیدروکسیل قادر به خنثی کردن رادیکال‌های آزاد می‌باشد. ترکیبات فنلی از طریق اهداء الکترون به رادیکال‌های آزاد، واکنش‌های اکسایش چربی را مهار می-کنند (Ahmadi *et al*., 2007).

میزان فنل کل روغن سویا حاوی غلظت‌های مختلف عصاره اتانولی آلوئه‌ورا در جدول ۴ گزارش شده است. همانطور که مشاهده گردید میزان فنل کل با گذشت زمان روند کاهشی داشت به طوری که پس از ۹۰ روز نگهداری بالاترین میزان فنل کل (mg GAE/g ۱۰۲/۳۳۳) متعلق به روغن سویای حاوی ppm ۲۰۰۰ عصاره اتانولی آلوئه‌ورا و پایین‌ترین میزان فنل کل (mg GAE/g ۰/۰۰۰) در نمونه شاهد (روغن سویای بدون آنتی‌اکسیدان) بود که از نظر آماری اختلاف معنی‌داری (p≤۰/۰۵) با یکدیگر داشتند. علت کاهش میزان ترکیبات فنلی طی زمان نگهداری می‌تواند مربوط به وقوع فعالیت‌های آنزیمی که مسئول تجزیه ترکیبات فنلی هستند، باشد (Froehlicher *et al*., 2009).

ترکیب‌های فنولیک قادرند تا یک اتم هیدروژن به رادیکال‌های آزاد بدهند و بدین ترتیب باعث توقف پیش روی واکنش‌های زنجیری در طی فرایند اکسایش چربی شوند. هم چنین، امکان اثر تشدیدکنندگی میان ترکیب‌های دارای اکسیژن و افزایش فعالیت ضداکسایشی نیز وجود دارد (Kulisic *et al*., 2004).

عصاره ژل آلوئه‌ورا سرشار از ترکیبات فنولی بوده و این ترکیبات به دلیل داشتن گروه‌های هیدروکسیل، توانایی خنثی‌سازی رادیکال های آزاد را دارند. فعالیت آنتی‌اکسیدانی ترکیبات فنولی به تعداد گروه هیدروکسیل در حلقه آروماتیک آن‌ها بستگی دارد، به طوری که با افزایش گروه هیدروکسیل در ساختار ترکیبات فنولی، فعالیت آنتی اکسیدانی نیز افزایش می‌یابد. تغییر در قطبیت حلال، توانایی آن حلال را در حل کردن یک گروه خاص از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی تغییر داده و ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی را تحت تأثیر قرار می‌دهد (El-Shemy *et al*., 2010).

اهمیت ترکیبات فنولی در صنعت مواد غذایی رو به افزایش است چرا که منجر به تأخیر اکسیداسیون چربی‌ها و در نتیجه بهبود کیفیت و ماندگاری مواد غذایی می‌گردند. مطالعات نشان داده است که آلوئه ورا حاوی ۱۲ آنتراکینون[1] متفاوت می‌باشد (Chang *et al*., 2011). شناخته‌شده‌ترین این ترکیبات فنولی، آلوین[2] و امودین[3] می‌باشند که اثرات ضد درد، ضد باکتریایی و ضد ویروسی آن‌ها به اثبات رسیده است (Gupta and Malhotra, 2012).

بررسی تغییرات DPPH (٪) عصاره اتانولی آلوئه‌ورا

مهار رادیکال‌های آزاد، یکی از شناخته‌شده‌ترین مکانیسم‌هایی است که به واسطه آن ترکیبات آنتی‌اکسیدانی می‌توانند اکسیداسیون چربی‌ها را مهار نمایند. D PPH، رادیکال چربی‌دوستی است که ماکزیمم جذب را در nm ۵۱۷ داراست و روبرو شدن با یک ترکیب‌دهنده پروتون منجر به کاهش جذب می‌گردد (Dordevic and Petrovic, 2007).

میزان DPPH غلظت‌های مختلف عصاره اتانولی آلوئه‌ورا در جدول ۵ گزارش شده است. همانطور که مشاهده گردید میزان DPPH با گذشت زمان روند کاهشی (p≤ ۰/۰۵) داشت به طوری که پس از ۹۰ روز نگهداری بالاترین میزان DPPH (٪ ۳۹/۰۰۰) متعلق به روغن سویای حاوی ppm ۲۰۰۰ عصاره اتانولی آلوئه‌ورا و پایین‌ترین میزان DPPH (٪ ۰/۰۰۰) در نمونه شاهد (روغن سویای بدون آنتی‌اکسیدان) که از نظر آماری اختلاف معنی‌داری (p≤۰/۰۵) با یکدیگر داشتند. علت آن می‌تواند حضور ترکیبات فنولی در عصاره ژل آلوئه‌ورا باشد که به دلیل داشتن گروه‌های هیدروکسیل، توانایی خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد را دارند. فعالیت آنتی‌اکسیدانی ترکیبات فنولی به تعداد گروه هیدروکسیل در حلقه آروماتیک آن‌ها بستگی دارد، به طوری که با افزایش گروه هیدروکسیل در ساختار ترکیبات فنولی، فعالیت آنتی‌اکسیدانی نیز افزایش می‌یابد. تغییر در قطبیت حلال، توانایی آن حلال را در حل کردن یک گروه خاص از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی تغییر داده و ارزیابی فعالیت آنتی اکسیدانی را تحت تأثیر قرار می‌دهد (Molyneux *et al*., 2004).

همراستا با نتایج بدست آمده از تحقیق حاضر، محققینی پس از بررسی اثر استفاده از اسانس پوست پرتقال بر پایداری اکسیداتیو روغن سویا بیان نمودند که اسانس پوست پرتقال دارای فعالیت ضد رادیکالی بوده و نسبت به نمونه کنترل (فاقد آنتی‌اکسیدان)، باعث پایداری اکسایشی روغن سویا در طی شرایط حرارتی شد (Dehghan *et al*., 2018). همچنین فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های متانولی و اتانولی گیاه مرزه توسط محققین بررسی شد و نشان دادند که فعالیت ضد رادیکالی عصاره متانولی مرزه بیشتر از عصاره اتانولی آن بود (Kamkar *et al*., 2013).

1- Anthraquinone
2- Aloin
3- Emodin

جدول ٤- بررسی تغییرات فنل کل mg GAE/g روغن سویا حاوی غلظت‌های مختلف عصاره اتانولی ژل آلوئه ورا طی ۹۰ روز نگهداری و شاهد[۱]

Table 4- Evaluation of MgKOH / g Total phenol changes of soybean oil containing different concentrations of ethanolic extract of aloe vera gel during 90 days of storage and control [1]

نوع و غلظت آنتی‌اکسیدان Type and concentration of antioxidant	مدت زمان نگهداری در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد Storage time at 25 ° C		
	روز ۳۰ Day 30	روز ٦٠ Day 60	روز ۹۰ Day 90
500 ppm extract+ oil	103.333 ±0.577^{dA}	98.67 ± 1.53^{cB}	72.333 ± 0.577^{dC}
1000 ppm extract+ oil	125.333 ± 0.577^{cA}	111.67 ± 1.53^{bB}	93.333 ± 0.577^{cC}
1500 ppm extract+ oil	137.667 ± 0.577^{bA}	126.67 ± 0.58^{aB}	99.333 ± 1.155^{bC}
2000 ppm extract+ oil	140.333 ± 0.577^{aA}	129.00 ± 1.00^{aB}	102.333 ± 0.577^{aA}
120 ppm BHT+ oil	137.333 ± 1.155^{dA}	127.33 ± 0.58^{aB}	99.667 ± 0.577^{bC}
Oil (without antioxidant)	0.000 ± 0.000^{eA}	0.000±0.000^{dA}	0.000±0.000^{eA}

شاهد[۱]: روغن سویا بدون آنتی‌اکسیدان و حاوی ۱۲۰ ppm BHT

نتایج به صورت میانگین ± انحراف معیار نشان داده شده است.

حروف متفاوت کوچک نشانگر اختلاف معنی‌دار در هر ستون می‌باشد.

حروف متفاوت بزرگ نشانگر اختلاف معنی‌دار در هر ردیف می‌باشد.

Control [1]: Soybean oil without antioxidants and containing 120 ppm BHT
Results are shown as mean ± standard deviation.
Small lower case letters indicate a significant difference in each column.
Different uppercase letters indicate a significant difference in each row.

جدول ۵- بررسی تغییرات DPPH (٪) روغن سویا حاوی غلظت‌های مختلف عصاره اتانولی ژل آلوئه ورا طی ۹۰ روز نگهداری و شاهد[۱]

Table 5- Evaluation of DPPH (%) changes of soybean oil containing different concentrations of ethanolic extract of aloe vera gel during 90 days of storage and control [1]

نوع و غلظت آنتی‌اکسیدان Type and concentration of antioxidant	مدت زمان نگهداری در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد Storage time at 25 ° C		
	روز ۳۰ Day 30	روز ٦٠ Day 60	روز ۹۰ Day 90
500 ppm extract+ oil	49.000±0.000^{dA}	32.333±0.577^{dB}	17.333±0.577^{cC}
1000 ppm extract+ oil	53.333±0.577^{cA}	43.000±1.000^{cB}	28.667±0.577^{bC}
1500 ppm extract+ oil	61.000±1.000^{bA}	51.667±0.577^{bB}	37.333±0.577^{aC}
2000 ppm extract+ oil	63.000±1.000^{aA}	54.333±0.577^{aB}	39.000±1.000^{aC}
120 ppm BHT+ oil	60.333±0.577^{bA}	52.333±0.577^{bB}	38.333±0.577^{aC}
Oil (without antioxidant)	0.000±0.000^{eA}	0.000±0.000^{eA}	0.000±0.000^{dA}

شاهد[۱]: روغن سویا بدون آنتی‌اکسیدان و حاوی ۱۲۰ ppm BHT

نتایج به صورت میانگین ± انحراف معیار نشان داده شده است.

حروف متفاوت کوچک نشانگر اختلاف معنی‌دار در هر ستون می‌باشد.

حروف متفاوت بزرگ نشانگر اختلاف معنی‌دار در هر ردیف می‌باشد.

Control [1]: Soybean oil without antioxidants and containing 120 ppm BHT
Results are shown as mean ± standard deviation.
Small lower case letters indicate a significant difference in each column.
Different uppercase letters indicate a significant difference in each row.

بررسی تغییرات پراکسید روغن سویا حاوی غلظت‌های مختلف عصاره اتانولی آلوئه‌ورا

عدد پراکسید به عنوان شاخص اولیه اکسیداسیون مطرح بوده، که در درجه حرارت‌های بالا ناپایدار بوده و به سهولت به مخلوطی از ترکیبات فرار آلدئید تبدیل می‌شود، بنابراین عدد پراکسید نمی‌تواند معیار مناسبی جهت تعیین پیشرفت واقعی اکسیداسیون باشد (Yaghmur *et al.*, 2001). تغییرات میزان عدد پراکسید در جدول ۶ گزارش شده است. همانطور که مشاهده می‌شود میزان پراکسید طی دوره نگهداری در تمامی به صورت معنی‌داری (p≤۰/۰۵) افزایش پیدا نمود، به طوری‌که پس از ۹۰ روز نگهداری بالاترین میزان پراکسید (۱۱/۱۶۶Meq/kg) در نمونه شاهد (روغن سویای بدون آنتی اکسیدان) و پایین‌ترین میزان پراکسید (۶/۸۳۳ Meq/kg) متعلق به

روغن سویای حاوی ۲۰۰۰ ppm عصاره اتانولی آلوئه‌ورا و پس از آن نمونه شاهد حاوی BHT ppm ۱۲۰بود که از نظر آماری اختلاف معنی‌داری (p≤۰/۰۵) با یکدیگر داشتند. علت بالاتر بودن اندیس پراکسید نمونه شاهد بدون آنتی‌اکسیدان ناشی از عدم افزوده شدن ضداکساینده بوده اما از طرف دیگر چون روغن سویا مورد استفاده در این پژوهش، تصفیه شده بود، بخشی از ترکیب‌های طبیعی آن مانند توکوفرول‌ها از دست رفته‌اند که خود در تسریع اکسایش مؤثر بوده است. علت پایین بودن اندیس پراکسید در نمونه‌های حاوی ۵۰۰ پی‌پی‌ام عصاره اتانولی می‌تواند به دلیل حضور ترکیبات فنلی در ژل آلوئه‌ورا باشد که تحقیقات انجام شده در این زمینه حاکی از وجود رابطه بین مقدار ترکیبات فعال آنتی‌اکسیدانی، بخصوص فنول‌ها و پایداری اکسیداتیو روغن‌ها باشد (Iqbal *et al*., 2008).

در این راستا محققینی فعالیت ضداکسایشی عصاره دانه رازیانه را روی روغن آفتابگردان بررسی و بیان کردند که عصاره دانه رازیانه دارای فعالیت ضداکسایشی بالاتری نسبت به ضداکساینده‌های سنتزی رایج BHT و BHA در روغن آفتابگردان می‌باشد (Tahami *et al*., 2012). همچنین خاصیت ضداکسایشی عصاره استخراجی از تفاله انگور در جلوگیری از اکسایش روغن سویا بررسی شده و نتایج اعداد پراکسید و تیوباربیتوریک اسید نشان داد که عصاره حاوی تانن تفاله انگور، دارای فعالیت مناسبی در مهار اکسایش روغن سویا بوده و حتی از ضداکساینده‌های سنتزی نیز عملکرد بهتری داشته است (Rouzbehan *et al*., 2008).

جدول ٦- بررسی تغییرات عدد پراکسید (Meq/kg) روغن سویا حاوی غلظت‌های مختلف عصاره اتانولی ژل آلوئه ورا طی ۹۰ روز نگهداری و شاهد[1]

Table 6- Evaluation of Peroxide (Meq/kg) changes of soybean oil containing different concentrations of ethanolic extract of aloe vera gel during 90 days of storage and control [1]

نوع و غلظت آنتی‌اکسیدان Type and concentration of antioxidant	مدت زمان نگهداری در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد Storage time at 25 ° C		
	روز ۳۰ Day 30	روز ٦۰ Day 60	روز ۹۰ Day 90
500 ppm extract+ oil	3.066±0.051^{bC}	5.966±0.052^{bB}	8.366±0.055^{bA}
1000 ppm extract+ oil	2.766±0.115^{cC}	5.500±0.000^{cB}	7.833±0.056^{cA}
1500 ppm extract+ oil	2.465±0.052^{dC}	5.033±0.054^{eB}	7.266±0.052^{eA}
2000 ppm extract+ oil	2.200±0.100^{eC}	4.766±0.057^{fB}	6.833±0.055^{fA}
120 ppm BHT+ oil	2.466±0.053^{dC}	5.266±0.059^{dB}	7.633±0.051^{dA}
Oil (without antioxidant)	3.566±0.057^{aC}	7.566±0.058^{aB}	11.166±0.058^{aA}

شاهد[1]: روغن سویا بدون آنتی‌اکسیدان و حاوی BHT ppm ۱۲۰

نتایج به صورت میانگین ± انحراف معیار نشان داده شده است.

حروف متفاوت کوچک نشانگر اختلاف معنی‌دار در هر ستون می‌باشد.

حروف متفاوت بزرگ نشانگر اختلاف معنی‌دار در هر ردیف می‌باشد.

Control [1]: Soybean oil without antioxidants and containing 120 ppm BHT

Results are shown as mean ± standard deviation.

Small lower case letters indicate a significant difference in each column.

Different uppercase letters indicate a significant difference in each row.

بررسی تغییرات تیوباربیتوریک اسید روغن سویا حاوی غلظت‌های مختلف عصاره اتانولی آلوئه‌ورا

تغییرات میزان تیوباربیتوریک اسید در جدول ۷ گزارش شده است. مطابق با نتایج میزان تیوباربیتوریک اسید طی دوره نگهداری در تمامی به صورت معنی‌داری (p≤۰/۰۵) افزایش پیدا نمود، به طوری که پس از ۹۰ روز نگهداری بالاترین میزان تیوباربیتوریک اسید (mg MDA/kg ۱/۲۰۰) متعلق به نمونه شاهد (روغن سویای بدون آنتی اکسیدان) و پایین‌ترین میزان تیوباربیتوریک اسید (mg MDA/kg ۰/۵۱۳) در روغن سویای حاوی ۲۰۰۰ ppm عصاره اتانولی آلوئه‌ورا و پس از آن (mg MDA/kg ۰/۵۴۰) نمونه سویا حاوی ppm ۱۵۰۰ بود که از نظر آماری اختلاف معنی‌داری (p≤۰/۰۵) با یکدیگر داشتند. در واقع علت افزایش میزان تیوباربیتوریک اسید در طی زمان نگهداری شکست هیدروپراکسیدها و تشکیل محصول ثانویه اکسیداسیون لیپید، بود (Mohammadi *et al*., 2016).

همچنین پس از ۹۰ روز نگهداری میزان اندیس TBA در نمونه شاهد به طور معنی‌داری بیشتر از نمونه‌های حاوی آنتی‌اکسیدان سنتزی و عصاره‌های ژل آلوئه‌ورا بود (p≤۰/۰۵)، زیرا عصاره‌های ژل آلوئه‌ورا دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی قابل توجهی بوده و از طریق کاهش سرعت اکسیداسیون، موجب کاهش تشکیل محصولات حاصل از اکسایش چربی گردید.

مطابق با نتایج تحقیق حاضر، (Mazaheri Kalhori *et al.*, 2014) نشان دادند با افزایش غلظت عصاره دانه رازیانه در روغن سویا تا محدوده mg/l ۴۰۰ میزان تولید محصولات ثانویه اکسایش و همچنین شدت اکسایش کاهش یافته اما در غلظت‌های بالاتر از میزان ذکر شده به علت افزایش اثرات پرواکسیدانی سرعت اکسایش افزایش می‌یابد.

سایر محققین گزارش کردند عصاره‌های گیاهی نظیر عصاره استونی هسته انار (Samad Louei *et al.*, 2007)، عصاره‌های اتانولی و متانولی مرزه (Kamkar *et al.*, 2013) و عصاره‌های مختلف اولئوگم رزین کندر (Mohammadi and Arabshahi- Delouee, 2016) سبب افزایش پایداری اکسیداتیو در روغن سویا شده و میزان درصد مهار تولید مالون دی‌آلدئید کاهش دهند.

جدول ۷- بررسی تغییرات تیوباربیتوریک اسید (mg MDA/kg) روغن سویا حاوی غلظت‌های مختلف عصاره اتانولی ژل آلوئه ورا طی ۹۰ روز نگهداری و شاهد[۱]

Table 7- Evaluation of mg MDA/kg TBA changes of soybean oil containing different concentrations of ethanolic extract of aloe vera gel during 90 days of storage and control [1]

نوع و غلظت آنتی‌اکسیدان Type and concentration of antioxidant	مدت زمان نگهداری در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد Storage time at 25 ° C روز ۳۰ Day 30	روز ۶۰ Day 60	روز ۹۰ Day 90
500 ppm extract+ oil	0.216 ± 0.005[bC]	0.566 ± 0.005[bB]	0.743 ± 0.011[bA]
1000 ppm extract+ oil	0.170 ± 0.010[cC]	0.426 ± 0.011[cB]	0.620 ± 0.010[cA]
1500 ppm extract+ oil	0.136 ± 0.005[dC]	0.363 ± 0.005[dB]	0.553 ± 0.005[dA]
2000 ppm extract+ oil	0.126 ± 0.005[dC]	0.356 ± 0.011[dB]	0.513 ± 0.005[eA]
120 ppm BHT+ oil	0.126 ± 0.005[dC]	0.363 ± 0.005[dB]	0.540 ± 0.010[dA]
Oil (without antioxidant)	0.340 ± 0.010[aC]	0.920 ± 0.010[aB]	1.200 ± 0.000[aA]

شاهد[۱]: روغن سویا بدون آنتی‌اکسیدان و حاوی ۱۲۰ ppm BHT

نتایج به صورت میانگین ± انحراف معیار نشان داده شده است.

حروف متفاوت کوچک نشانگر اختلاف معنی‌دار در هر ستون می‌باشد.

حروف متفاوت بزرگ نشانگر اختلاف معنی‌دار در هر ردیف می‌باشد.

Control [1]: Soybean oil without antioxidants and containing 120 ppm BHT

Results are shown as mean ± standard deviation.

Small lower case letters indicate a significant difference in each column.

Different uppercase letters indicate a significant difference in each row.

بررسی تغییرات رنسیمت روغن سویا حاوی غلظت‌های مختلف عصاره اتانولی آلوئه‌ورا

روش رنسیمت اغلب برای ارزیابی یا پیش‌بینی پایداری اکسیداتیو در شرایط حرارتی بوده و به عنوان زمان القاء یا زمان مقاوت استفاده می‌شود. تغییرات میزان رنسیمت در جدول ۸ گزارش شده است. مطابق با نتایج میزان رنسیمت طی دوره نگهداری در تمامی نمونه‌ها به صورت معنی‌داری (p≤۰/۰۵) کاهش پیدا نمود، به طوری که پس از ۹۰ روز نگهداری بالاترین میزان رنسیمت (۴/۴۳۰) متعلق به روغن سویای حاوی ppm ۲۰۰۰ عصاره اتانولی آلوئه‌ورا و پایین‌ترین میزان رنسیمت (۱/۱۰۶) در نمونه شاهد (روغن سویای بدون آنتی‌اکسیدان) و پس از آن (۲/۶۴۳) نمونه سویا حاوی ppm ۵۰۰ بود که از نظر آماری اختلاف معنی‌داری (p≤۰/۰۵) با یکدیگر داشتند.

عصاره‌های اتانولی ژل آلوئه‌ورا طی دوره نگهداری تأثیر قابل توجهی بر بهبود پایداری روغن سویا از خود نشان دادند. و افزودن عصاره‌های اتانولی ژل آلوئه‌ورا و آنتی‌اکسیدان سنتزی BHA موجب افزایش معنی‌دار پایداری روغن سویا نسبت به اکسیداسیون گردید، که این امر به دلیل خاصیت آنتی‌اکسیدانی و چلات‌کنندگی عصاره‌های مذکور می‌باشد.

در این راستا محققی ثمرین و همکاران (Mohagheghi Samarin *et al.*, 2011) به بررسی خاصیت ضداکسایشی عصاره استخراجی از پوست سیب‌زمینی در جلوگیری از اکسایش روغن سویا با روش رنسیمت پرداختند. نتایج آن‌ها نشان داد که عصاره مورد بررسی، دارای فعالیت مناسبی در جلوگیری از اکسایش روغن سویا بوده و فعالیت ضداکسایشی مشابه با ضداکساینده‌های سنتزی BHT و BHA داشته است. در پژوهش دیگری محققین گزارش نمودند عصاره دانه رازیانه باعث افزایش زمان مقاومت نسبت به اکسایش در روغن آفتابگردان شده است (Tahami *et al.*, 2012).

جدول ۸- بررسی تغییرات رنسیمت روغن سویا حاوی غلظت‌های مختلف عصاره اتانولی ژل آلوئه‌ورا طی ۹۰ روز نگهداری و شاهد[۱]

Table 8- Evaluation of rancimat changes of soybean oil containing different concentrations of ethanolic extract of aloe vera gel during 90 days of storage and control [1]

نوع و غلظت آنتی‌اکسیدان Type and concentration of antioxidant	مدت زمان نگهداری در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد Storage time at 25 ° C		
	روز ۳۰ Day 30	روز ۶۰ Day 60	روز ۹۰ Day 90
500 ppm extract+ oil	5.640 ± 0.010^{eA}	4.363 ± 0.005^{dB}	2.643 ± 0.005^{eC}
1000 ppm extract+ oil	6.303 ± 0.005^{dA}	5.420 ± 0.010^{cB}	3.223 ± 0.005^{dC}
1500 ppm extract+ oil	7.126 ± 0.005^{cA}	5.903 ± 0.005^{bB}	4.116 ± 0.011^{cC}
2000 ppm extract+ oil	7.520 ± 0.000^{aA}	6.240 ± 0.010^{aB}	4.430 ± 0.010^{aC}
120 ppm BHT+ oil	7.233 ± 0.005^{bA}	5.916 ± 0.005^{bB}	4.143 ± 0.005^{bC}
Oil (without antioxidant)	3.403 ± 0.005^{fA}	2.166 ± 0.057^{eB}	1.106 ± 0.005^{fC}

شاهد[۱]: روغن سویا بدون آنتی‌اکسیدان و حاوی ۱۲۰ ppm BHT

نتایج به صورت میانگین ± انحراف معیار نشان داده شده است.

حروف متفاوت کوچک نشانگر اختلاف معنی‌دار در هر ستون می‌باشد.

حروف متفاوت بزرگ نشانگر اختلاف معنی‌دار در هر ردیف می‌باشد.

Control [1]: Soybean oil without antioxidants and containing 120 ppm BHT

Results are shown as mean ± standard deviation.

Small lower case letters indicate a significant difference in each column.

Different uppercase letters indicate a significant difference in each row.

نتیجه‌گیری

امروزه تحقیقات نسبتاً وسیعی در ارتباط با توان بالقوه آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی و بررسی امکان جایگزینی آن به جای آنتی اکسیدان‌های سنتزی در روغن‌های خوراکی انجام شده است. در این پژوهش فعالیت آنتی‌اکسیدانی غلظت‌های مختلف عصاره اتانولی آلوئه‌ورا بر پایداری اکسایشی روغن سویا طی ۹۰ روز نگهداری بررسی گردید. بررسی ترکیبات عصاره اتانولی ژل آلوئه‌ورا در این مطالعه نشان داد، که دارای مقادیر بالای ترکیبات اکسیژن‌دار و ترکیبات فنولیک است که خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره اتانولی ژل آلوئه‌ورا را تصدیق می‌کند. از این رو با افزایش غلظت عصاره اتانولی ژل آلوئه‌ورا به کار گرفته شده در نمونه‌های روغن سویا، به صورت معنی‌داری از افزایش عدد پراکسید، تیوباربیتوریک اسید و اسیدیته روغن سویا نسبت به نمونه شاهد (بدون آنتی‌اکسیدان) و نمونه حاوی ۱۲۰ ppm آنتی‌اکسیدان طی ۹۰ روز نگهداری جلوگیری نمود. نمونه روغن سویای حاوی ۲۰۰۰ ppm عصاره اتانولی ژل آلوئه‌ورا نسبت به سایر تیمارها بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی را داشت و به عنوان آنتی اکسیدان طبیعی، توانایی واکنش با رادیکال‌های حاصل از اکسیداسیون لیپیدها را داشته و موجب قطع واکنش‌های زنجیری و افزایش زمان اکسیداسیون کند و کاهش سرعت اکسیداسیون خودبه خودی می‌شود. بنابراین، می‌توان عصاره آلوئه‌ورا را پس از آزمایش‌های تکمیلی، در غلظت‌های مناسب، به عنوان جایگزین طبیعی ترکیب‌های سنتزی BHA و BHA در مواد غذایی به کار برد.

منابع

1. Ahmadi, F., Kadivar, M., & Shahedi, M. (2007). Antioxidant activity of kelussia odoratissima moza, in model and food systems. *Food Chemistry*, *105*, 57-64. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.03.056
2. Ayoubi, A., Omidi, A., Valizade, R., & Mousaei, A. (2013). Effect of hydroalcoholic extract of *Aloe vera* and *Teucrium* on serum glucose and lipid profile in streptozotocin diabetic male rats. *Journal Birjand Univercitu Medical Science*, *20*(2), 144-152. (In Persian). http://journal.bums.ac.ir/article-1-1335-fa.html
3. Bazari Moghaddam, S., Haghighi, M., Sharif Rohani, M., Hamidi, M., & Ghasemi, M. (2016). Effects of *Aloe vera* extract on growth indices, carcass composition and bacterial flora of intestine in Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*). *Iranian Scientific Fisheries Journal*, *25*(1), 40-53. (In Persian). https://doi.org/10.22092/ISFJ.2017.110222
4. Bhargawa, S., Kapoor, S., Ranote, P.S., & Sharma, S. (2014). Studies on aloe juice supplemented kinnow nectar. *Research Jouranal Agriculture and Forestry Science*, *2*(8), 14-20. http://www.isca.me/AGRI_FORESTRY/Archive/v2/i8/3.ISCA-RJAFS-2014-041.pdf

5. Boghani, A.H., Raheem, A., & Hashmi, S.I. (2012). Development and storage studies of blended papaya-*Aloe vera* ready to serve (RTS) beverage. *Jornal of Food Process Technology*, *3*(10), 2. https://doi.org/10.4172/2157-7110.1000185
6. Bubonja-Sonje, M., Giacometti, J., & Abram, M. (2011). Antioxidant and antilisterial activity of olive oil, cocoa and rosemary extract polyphenols. *Food Chemistry*, *127*(4), 1821-7. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.02.071
7. Chang, C., Yang, M., Wen, H., & Chern, J. (2002). Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal of Food and Drug Analysis*, *10*, 178-182. https://doi.org/10.38212/2224-6614.2748
8. Chang, X.L., Chen, B.Y., & Feng, Y.M. (2011). Water-soluble polysaccharides isolated from skin juice, gel juice and flower of Aloe vera Miller. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*, *42*(2), 197-203. https://doi.org/10.1016/j.jtice.2010.07.007
9. Dordevic, S., & Petrovic, S. (2007). Antimicrobial, anti-inflammatory, anti-ulcer and antioxidant activities of Carlina acanthifolia root essential oil. *Journal of Ethnopharmacol*, *109*, 458–63. https://doi.org/10.1016/j.jep.2006.08.021
10. Dehghan, B., Esmaeilzadeh Kenari, R., & Raftani Amiri, Z. (2019). Investigate the antioxidant properties of orange peel essential oil (*Citrus sinesis*) on the stability of soybean oil during storage conditions. *Food Technology & Nutrition*, *16*(3), 73-90. (In Persian). https://jftn.srbiau.ac.ir/article_14371.html?lang=en
11. Ebrahimzadeh, M.A., Pourmorad, F., & Hafezi, S. (2008). Antioxidant activities of Iranian corn silk. *Turkish Journal of Biology*, *32*, 43-49. https://journals.tubitak.gov.tr/biology/vol32/iss1/7
12. El-Shemy, H.A., Aboul-Soud, M.A., Nassr- Allah, A.A., Aboul-Enein, K.M., Kabash, A., & Yagi, A. (2010). Antitumor properties and modulation of antioxidant enzymes activity by *Aloe vera* leaf active principles isolated via supercritical carbon dioxide extraction. *Current Medicinal Chemistry*, *17*(2), 129-38. https://doi.org/10.2174/092986710790112620
13. Esfandiarifard, M., & Ziaolhagh, S. (2021). Study on the antioxidant activity of propolis extract and its effect on the oxidation of sunflower oil. *Biochemistry and Forensic Science*, *17*(107), 119-130. https://doi.org/10.52547/fsct.17.107.119
14. Farhoosh, R. (2007). The effect of operational parameters of the Rancimat method on the determination of the oxidative stability measures and shelf-life prediction of soybean oil. *Journal of American Oil Chemistry Society*, *84*, 205-209. https://link.springer.com/article/10.1007/s11746-006-1030-4
15. Froehlicher, T., Hennebelle, T., Martin-Nizard, F., Cleenewerck, P., Hilbert, J.L., Trotin, F., & Grec, S. (2009). Phenolic profiles and antioxidative effects of hawthorn cell suspensions, fresh fruits, and medicinal dried parts. *Food Chemistry*, *115*, 897–903. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.01.004
16. Gupta, V.K., & Malhotra, S. (2012). Pharmacological attribute of *Aloe vera*: revalidation through experimental and clinical studies. *An International Quarterly Journal of Research in Ayurveda*, *33*(2), 193–196. https://doi.org/10.4103/0974-8520.105237
17. Hinneburg, I., Damien Dorman, H.J., & Hiltunen, R. (2006). Antioxidant activities of extracts from selected culinary herbs and spices. *Journal of Food Chemistry*, *97*, 122–129. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.03.028
18. Iqbal, S., & Bhanger, M. (2007). Stabilization of sunflower oil by garlic extract during accelerated storage. *Food Chemistry*, 100, 246–254. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.09.049
19. Joseph, B. (2010). Pharmacognostic and phytochemical properties of Aloe vera linn – an overview. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, *4*(2), 34-42. https://www.scirp.org/(S(i43dyn45teexjx455qlt3d2q))/reference/ReferencesPapers.aspx?ReferenceID=996325
20. Kamkar, A., Tooryan, F., Akhondzadeh Basti, A., Misaghi, A., & Shariatifar, N. (2013). Chemical composition of summer savory (*Satureja hortensis* L.) essential oil and comparison of antioxidant activity with aqueous and alcoholic extracts. *Journal of Veterinary Reserch*, *68*, 2, 183-190. (In Persian). https://doi.org/10.22059/JVR.2013.31966
21. Kulisic, T., Radonic, A., Katalinic, V., & Milosa, M. (2004). Use of different methods for testing antioxidative activity of oregano essential oil, analytical, nutritional and clinical methods. *Food Chemistry*, *85*, 633–640. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2003.07.024
22. Mazaheri Kalhori, M., Basiri, A., & Jalali, H. (2014). Evaluation of anti-oxidant properties of fennel seed essential oil (*Foeniculum vulgare*) and its effect on oxidative stability of soybean oil. *Iranian Biosystem Engineering*, *45*(2), 131-139. (In Persian). https://doi.org/10.22104/JIFT.2014.41

23. Molyneux, P.H. (2004). The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakar in Journal Science Technology*, *26*, 211-9. https://www.thaiscience.info/journals/article/song/10462423.pdf
24. Mohagheghi Samarin, A., Poorazarang, H., Elhamirad, A.H., Dezashibi1, Z., & Hematyar, N. (2011). Extraction of phenolic compounds from potato peel (*Ramus variety*) with solvent and ultrasound-assisted methods and evaluation of its antioxidant activity in soybean oil. *Journal of Food Science and Technology*, *8*(1), 81-91. http://fsct.modares.ac.ir/article-7-5437-en.html
25. Mohammadi, A., Jafari, S.M., Esfanjani, A.F., & Akhavan, S. (2016). Application of nano-encapsulated olive leaf extract in controlling the oxidative stability of soybean oil. *Food Chemistry*, *190*, 513-519. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.05.115
26. Mohammadi, A., & Arabshahi- Delouee, S. (2016). Antioxidant properties of extract *Boswellia serrata* oleo-gum resin in soyabean oil. *Iranian Food Science and Technology Research Journal*, *12*(4), 477-488. (In Persian). https://doi.org/10.22067/ifstrj.v12i4.40783
27. Parizan, T., Elhamirad, A.H., Estiri, S.H., & Armin, M. (2011). Assessing antioxidant activity methanol extract of senna leaf and its effect on the stability of soybean oil. *Inovations in Food Science and Technology*, *1*(7), 51-59. (In Persian). https://sid.ir/paper/176504/fa
28. Rafiei, Z., Jafari, S.M., Alami, M., & Khomeiri, M. (2011). Antioxidant properties of olive leaf extract and its application in sunflower oil. *Journal of Food Research (University of Tabriz)*, *21*(1), 11-23. (In Persian). https://foodresearch.tabrizu.ac.ir/article_938.html?lang=en
29. Rouzbehan, Y., Alipour, D., Barzegar, M., & Azizi, M.H. (2008). Antioxidant activity of phenolic compounds of grape pomace. *International Journal of Food Science and Technology*, *5*(3), 69-74. https://sid.ir/paper/72424/en
30. Salehi, E.A., Esmailzadeh Kenari, R., & Nasiri Takami, T. (2014). Investigation of the effect of pomegranate extract (*Pimppinella affinis* Ledeb) on the stabilization of canola oil during storage conditions. *Iranian Food Science and Technology Research Journal*, *10*(2), 176-181. (In Persian). https://ifstrj.um.ac.ir/article_33825_f546275fc322bf7f7ba17b9384341f13.pdf
31. Salta, F.N., Mylona, A., Chiou, A., Boskou, G., & Andrikopoulos, N.K. (2007). Oxidative stability of edible vegetable oils enriched in polyphenols with olive leaf extract. *Food Science and Technology International*, *13*(6), 413-421. https://doi.org/10.1177/1082013208089563
32. Samad Louei, H.R., Azizi, M.H., & Barzegar, M. (2007). Antioxidative effect of pomegranate seed phenolic componends on soybean oil. *Journal of Agricultural Sciences and Natural Resources*, *14*(4), 193-200. (In Persian). https://www.sid.ir/fa/VEWSSID/J_pdf/51413860416.pdf
33. Sasi Kumar, R., Ray, R.C., Paul, P.K., & Suresh, C.P. (2013). Development and storage studies of therapeutic ready to serve (RTS) made from blend of *Aloe vera* Aonla and ginger juice. *Journal Food Process Technology*, *4*(232), 2. https://doi.org/10.4172/2157-7110.1000232
34. Selmi, S., Limam, Z., Batista, I., Bandarra, N.M., & Nunes, M. L. (2011). Effects of storage temperature and α tocopherol on oil recovered from sardine mince. *International Journal* of *Refrigeration*, *34*(5), 1315-1322. https://doi.org/10.1016/j.ijrefrig.2010.08.018
35. Shahidi, F. (2005). *Bailey's industrial oil and fat products*. (6th edn), John Wiley & Sons, Inc, simultaneously in Canada. https://onlinelibrary.wiley.com/doi/book/10.1002/047167849X
36. Singh, G., Maurya, S., & Catalan, C. (2005). Chemical constituents antimicrobial investigations and antioxidant potentials of *Anethum graveolens* essential oil and acetone extract: part 52. *Journal Food Sci*ence, *70*, 208-215. https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2005.tb07190.x
37. Tahami, F.S., Basiri, A., Tarzi, B., & Mahasti, P. (2012). Evaluation of the antioxidant effect of fennel seed extract (*Foeniculum vulgare*) on the stability of sunflower oil. *Food Technology & Nutrition*, *10*(1), 71-78. (In Persian). https://sid.ir/paper/143139/fa
38. Tiwari, P., Kumar, B., Kaur, M., Kaur, G., & Kaur, H. (2011). Phytochemical screening and extraction: a review. *International Pharmaceutica Sciencia*, *1*(1), 98-108. http://www.ipharmsciencia.com
39. Wang, W., Wu, N., Zu, Y.G., & Fu, Y.J. (2008). Antioxidative activity of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil compared to its main components. *Food Chemistry*, *108*, 1019–1022. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.11.046
40. Yaghmur, A., Aserin, A., Mizrahi, Y., Nerd, A., & Garti, N. (2001). Evaluation of argan oil for deep-fat frying. *Lebensm Wiss. u.-Technology*, *34*, 124-130. https://doi.org/10.1006/fstl.2000.0697

41. Yao, X., Zhang, D., Zu, Y., Fu, Y., Luo, M., Gu, C., Li, C.M.F., & Efferth, T. (2013). Free radical scavenging capability, antioxidant activity and chemical constituents of *Pyrola incarnata* Fisch. Leaves. *Industrial Crops and Products*, *49*, 247–255. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.04.058